Agrobacterium tumefaciens
Electro-Cells LBA4404

使 用 说 明 书

Takara Code：D9115

包 装 量

Electro-Cells LBA4404	40 μl	× 5 支
Control DNA（pRI900，1 ng/μl）	10 μl	× 1 支

保　　存：-80℃

制品说明

根癌农杆菌（*Agrobacterium tumefaciens*）是一种能诱发植物产生肿瘤的细菌，根癌农杆菌中包含有一个诱导植物产生肿瘤的质粒（Tumor inducing plasmid），简称为 Ti 质粒。野生型农杆菌的 Ti 质粒，含有两个与致瘤有关的区域：一个是 T - DNA 区（transferred DNA region），含致瘤基因；另一个是毒性区（Virulence region），在 T - DNA 的切割、转移与整合过程中起作用。农杆菌通过侵染植物伤口，可将 T-DNA 插入到植物基因组中。因此，农杆菌是一种天然的植物遗传转化体系。将目的基因插入到经过改造的 T-DNA 区，借助农杆菌的感染实现外源基因向植物细胞的转移与整合。

Agrobacterium tumefaciens LBA4404 含有经过改造的 Ti 质粒 pAL4404，其只含有 vir 和 ori 区域，T - DNA 区被删除。利用 LBA4404 进行植物基因转导时，需要与合适的双元载体配合使用，如：pRI909，其含有 T - DNA 区，此区中的致瘤基因被删除，并插入了适当的选择标记和多克隆位点。实验时，将目的基因插入双元载体，将其电转化至 LBA4404 中，重组的 DNA 可以通过 pAL4404 质粒上的 vir 区来感染植物细胞，将外源基因整合到植物细胞的染色体 DNA 上。

Agrobacterium tumefaciens LBA4404 Electro-Cells 可用于介导植物基因的转化，实现外源基因向植物细胞的转移与整合，从而达到植物基因改造的目的。本宿主使用方便，操作简单，适合各种各样的植物细胞感染实验。

细胞浓度：1～2×10^{10} Bacteria/ml

质量标准

1. 使用 1 ng 的质粒 DNA 进行转化时：
   20 μl *E.coli* Electro-Cells LBA4404/ng pRI900 Plasmid
   ＞5×10^6 transformants/μg pRI900 Plasmid。
2. 40 μl 的 *E.coli* Electro-Cells 在含有 100 μg/ml Ampicillin 的 L-琼脂平板培养基上过夜培养 40 hr 不产生菌落。

使用方法

质粒 DNA 的转化方法

1. Electro-Cell（20 μl）使用前在冰中融化。
2. 在融化的 Electro-Cell 中加入 1～2 μl DNA 溶液（当 DNA 溶液中有盐存在时用乙醇沉淀脱盐）。
3. 将 Electro-Cell 及 DNA 混合液注入到冰中预冷的 0.1 cm 冲击槽内（Cuvette）。
4. 2.5 KV 电压冲击后，迅速置于冰中冷却，加入 1 ml SOC 培养基。
5. 30℃振荡培养 1 小时（100 rpm）。
6. 取适量涂布琼脂平板培养基。
7. 30℃ 40 小时培养。

注意事项

1. 一定要用干冰运输。
2. 不立即使用的感受态细胞请在-80℃下保存（融化后的感受态细胞不能再冻结保存）。
3．导入分子量较大的 DNA 时，转化效率稍低。
4. 使用 SOC 培养基的地方也可使用 LB 培养基，但转化效率会有所下降。
5. 包装中附有 1 ng/μl 的 pRI900 DNA，供作对照实验使用。
6. 20 μl 的电转化细胞中，转化的质粒 DNA 量不能超过 10 ng，否则效率会下降。

备　　注

SOC 培养基的组成

2%	Bacto tryptone
0.5%	Bacto yeast extract
10 mM	NaCl
2.5 mM	KCl
10 mM	$MgSO_4$
10 mM	$MgCl_2$
20 mM	Glucose

V2011.07